

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Fermentasi pada Bahan Pangan

Menurut Jay dkk. (2005), fermentasi adalah proses perubahan kimiawi, dari senyawa kompleks menjadi lebih sederhana dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh mikrobia. Proses fermentasi akan menyebabkan terjadinya penguraian senyawa-senyawa organik untuk menghasilkan energi serta terjadi perubahan substrat menjadi produk baru oleh mikrobia (Bourgaize dkk., 1999; Madigan dkk., 2011).

Fermentasi dilakukan terhadap suatu bahan makanan untuk mendapatkan produk makanan baru yang dapat memperpanjang daya simpan (Farnworth, 2008). Aktivitas mikrobia pada fermentasi akan menyebabkan perubahan kadar pH dan terbentuk senyawa penghambat seperti alkohol dan bakteriosin yang dapat menghambat pertumbuhan mikrobia pembusuk (Waites dkk., 2001).

Menurut Antara (2010), fermentasi susu merupakan salah satu cara untuk memperpanjang umur simpan produk susu. Produk fermentasi susu dapat dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu (i) fermentasi laktat, (ii) fermentasi *yeast*-laktat, (iii) fermentasi kapang-laktat. Menurut Legowo (2005), penggunaan mikrobia *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* pada fermentasi susu dapat menghasilkan produk *yoghurt*. Beberapa aplikasi produk fermentasi susu lainnya seperti yakult, kefir, susu asidofilus, dadih, dahi, *koumiss*, dan *calpis*.

B. Deskripsi dan Kualitas *Yoghurt*

Produk fermentasi dengan bahan dasar susu adalah *yoghurt*. *Yoghurt* dapat diartikan sebagai produk koagulasi susu yang dihasilkan melalui proses fermentasi oleh BAL, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*, dengan penambahan bahan lain yang diizinkan, atau dengan kata lain *yoghurt* adalah produk susu yang diasamkan (Winarno dan Fernandez, 2007).

Secara garis besar proses pembuatan *yoghurt* terdiri dari 4 langkah dasar yaitu: (1) pemanasan (pasteurisasi) susu, (2) inokulasi kultur *starter*, (3) inkubasi dan (4) pendinginan. Pemanasan bertujuan untuk menghancurkan dan menginaktivasi organisme yang tidak diinginkan yang dapat berkompetisi dengan BAL seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella* sp. Selain itu, pemanasan juga memengaruhi protein dalam susu untuk mengikat air sehingga diperoleh *curd* yang lebih kompak dan suhu pemanasan yang tinggi dapat membebaskan oksigen sehingga menciptakan kondisi anaerob selama fermentasi (Helferich dan Westhoff, 1980).

Inokulasi kultur *starter* biasanya dilakukan sesuai suhu optimum kultur *starter* yang digunakan dalam pembuatan *yoghurt*. Kultur bakteri yang biasa dipergunakan dalam produksi *yoghurt* adalah *Streptococcus thermophilus* dan *Lactobacillus bulgaricus*. Kedua bakteri tersebut mempunyai suhu optimum 42-45⁰C (Tamime dan Deeth, 1980). Susu yang diinokulasi kultur *starter* kemudian diinkubasi sampai diperoleh keasaman yang diinginkan, kurang lebih selama 6-8 jam (Tamime dan Robinson, 1985). Selama proses inkubasi berlangsung, terdapat tiga hal penting yang terjadi yaitu:

1. Kultur memanfaatkan laktosa sebagai sumber energi. Mula-mula laktosa dihidrolisis oleh enzim D-galaktosidase dalam sel bakteri menjadi glukosa dan galaktosa. Glukosa ini dimetabolisme oleh sel bakteri membentuk asam piruvat, lalu diubah menjadi asam laktat. Secara sederhana, reaksi perubahan laktosa menjadi asam laktat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Perubahan laktosa menjadi asam laktat (Tamime dan Robinson, 1985)

2. Akumulasi asam laktat menyebabkan keasaman pada susu meningkat yang mengakibatkan kompleks kalsium-kasein-fosfat dalam susu menjadi tidak stabil. Keasaman susu yang semakin tinggi sampai akhirnya pH turun mencapai 4,6-4,7 menyebabkan terbentuknya koagulum atau *curd* pada susu.
3. Selama proses fermentasi juga terjadi pembentukan kompleks *flavor* seperti asetaldehid, aseton, asetonin, dan diasetil.

Secara umum produk *yoghurt* yang memiliki kualitas baik harus memenuhi kriteria Badan Standardisasi Nasional (2009) tentang *yoghurt*, dapat dilihat pada Lampiran 1. Menurut Antara (2010), berdasarkan penerimaan panelis, kriteria ditentukan dari tekstur atau viskositas, derajat keasaman (pH atau total asam) dan kandungan senyawa *flavor*. Parameter mutu tersebut sangat berpengaruh terhadap mutu sensoris *yoghurt*. *Flavor* dan tekstur/viskositas merupakan faktor yang sangat nyata memengaruhi mutu dan penerimaan *yoghurt* oleh konsumen.

Menurut Antara (2010), kultur *starter* yang digunakan merupakan penanggung jawab utama dalam proses pembentukan senyawa *flavor* yang menyumbang pada aroma *yoghurt*. Senyawa-senyawa tersebut dibagi ke dalam empat kelompok utama, yaitu:

1. Asam non-volatil (asam laktat, piruvat atau suksinat)
2. Asam volatil (asam format, asetat, propionate atau butirat)
3. Senyawa karbonil (asetaldehida, aseton, asetoin atau diasetil)
4. Senyawa lainnya (asam-asam amino dan senyawa yang terbentuk hasil degradasi termal dari protein, lemak atau laktosa).

Menurut Antara (2010), berdasarkan kelompok senyawa *flavor* tersebut, aroma dan *flavor yoghurt* secara mendasar disebabkan oleh terbentuknya senyawa-senyawa asam non-volatil, asam volatil, dan karbonil. Banyak peneliti menyatakan bahwa keberadaan asetaldehida dan diasetil (kelompok senyawa karbonil) merupakan senyawa yang paling dominan menentukan aroma *yoghurt*

Menurut Antara (2010), secara organoleptik kandungan asetaldehida dan diasetil dengan rasio 1:1 memberikan aroma *yoghurt* yang disukai. Kandungan asetaldehida yang tinggi tidak memberikan rasa *yoghurt* yang baik. Hasil uji organoleptik memperlihatkan bahwa rasa terbaik oleh panelis diberikan untuk *yoghurt* dengan kandungan asetaldehida yang rendah dan kemungkinan kandungan senyawa karbonil lainnya memberikan pengaruh terhadap *flavor* dan/atau aroma *yoghurt*. Aroma dan *flavor* khas *yoghurt* (natural atau *plain yoghurt*) sangat erat kaitannya dengan kandungan senyawa karbonil, terutama asetaldehida.

Selama proses produksi *yoghurt* Antara (2010) menjelaskan bahwa produksi asetaldehida terjadi pada tingkat keasaman tertentu (mulai pH 5,0) dan maksimum produksi terjadi pada saat *yoghurt* mencapai pH 4,2 yang selanjutnya kandungan asetaldehida mulai stabil. Penambahan bubuk susu (skim atau *whey powder*) dan perlakuan pemanasan terhadap bahan baku susu dapat meningkatkan kandungan asetaldehida secara signifikan. Kandungan asetaldehida dan senyawa karbonil lainnya akan mengalami penurunan selama penyimpanan produk *yoghurt*.

Antara (2010) menyatakan bahwa tekstur/kekentalan *yoghurt* tergantung pada jenis *yoghurt* yang diproduksi. *Drinking yoghurt* akan diproduksi dengan hasil *yoghurt* viskositas rendah (wujud cair). Hal ini akan berbeda apabila diproduksi *curd* atau set *yoghurt* yang menghendaki produk *yoghurt* kental dalam wujud gel.

Parameter kualitas lainnya, secara khusus untuk *yoghurt* dengan bakteri probiotik adalah kemampuan viabilitas dari bakteri. Menurut Harmayani dkk., (2001), hal-hal yang memengaruhi viabilitas adalah *strain* mikrobial, kondisi pertumbuhan, umur kultur, medium pensuspensi, dan kondisi proses. Menurut Codex (2003), persyaratan jumlah sel hidup probiotik dalam kultur *starter* susu fermentasi minimal 10^7 CFU/g. Namun syarat jumlah bakteri hidup yang sampai di saluran pencernaan harus lebih dari 10^6 CFU/g atau 10^6 CFU/ml (Usmiati dan Utami, 2008).

C. Syarat dan Mekanisme Pertumbuhan Starter

Menurut Rahman dkk., (1992), *starter* adalah bagian yang penting dalam pembuatan *yoghurt*. Beberapa aspek penting dari *starter* yaitu bebas dari

kontaminasi, pertumbuhan yang cepat, menghasilkan *flavor* yang khas, tekstur, dan bentuk yang bagus, tahan terhadap bakteriofage, dan juga tahan terhadap antibiotik. Menurut Nuraida dkk., (1995), kultur *starter yoghurt* yang aktif harus memenuhi karakteristik sebagai berikut : (a) harus mengandung jumlah sel yang maksimum, (b) harus bebas dari cemaran mikrobia lain, dan (c) harus aktif di bawah kondisi fermentasi.

Menurut Cappucino dan Sherman (1987); Fardiaz (1992), pertumbuhan mikrobia dalam suatu *starter* terbagi menjadi berbagai fase, yaitu:

- 1) Fase adaptasi, yaitu fase menyesuaikan diri dengan substrat dan kondisi lingkungan di sekitarnya. Pada fase ini belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Jumlah sel ada fase ini mungkin tetap tapi kadang-kadang menurun. lamanya fase ini bervariasi, dapat cepat atau lambat tergantung dari kecepatan penyesuaian dengan lingkungan sekitarnya.
- 2) Fase pertumbuhan awal. Pada fase ini sel mulai membelah dengan cepat dan konstan, pertumbuhan yang jumlah selnya mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrien, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini sel membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan dengan fase lainnya, selain itu sel paling sensitif terhadap keadaan lingkungan.

- 3) Fase pertumbuhan lambat. Pada fase ini terjadi perlambatan pertumbuhan karena beberapa sebab yaitu: zat nutrisi di dalam medium sudah sangat berkurang, adanya hasil-hasil metabolisme yang kemungkinan beracun atau menghambat pertumbuhan. Pada fase ini pertumbuhan sel tidak stabil, tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati.
- 4) Fase pertumbuhan tetap (statis). Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah mulai habis. Biasanya pada fase ini sel-sel menjadi lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang kurang memadai.
- 5) Fase menuju kematian dan fase kematian. Pada fase ini sebagian populasi jasad renik mulai mengalami kematian karena beberapa sebab yaitu: nutrisi dalam medium sudah habis, jumlah sel yang mati semakin lama semakin banyak.

D. Bakteri asam laktat sebagai Probiotik

Bakteri asam laktat (BAL) termasuk bakteri yang aman jika ditambahkan dalam pangan karena tidak bersifat toksik, tidak menghasilkan toksin dan umumnya memenuhi status GRAS (*Generally Recognized As Safe*), yaitu mikrobia yang tidak beresiko terhadap kesehatan, bahkan beberapa jenis bakteri tersebut berguna bagi kesehatan (Fuller, 1992). BAL yang biasa digunakan untuk *starter* dalam pembuatan

yoghurt adalah sekelompok bakteri yang dapat mengubah laktosa menjadi asam laktat. BAL ini dapat digolongkan menjadi 2 golongan yaitu golongan bakteri homofermentatif dan bakteri heterofermentatif (Soeharsono, 2010).

Menurut Fardiaz (1992), BAL homofermentatif digunakan dalam pengawetan makanan karena produksi asam laktat dalam jumlah besar serta mampu menghambat bakteri penyebab kebusukan makanan dan bakteri patogen lainnya. Golongan BAL heterofermentatif lebih berperan dalam pembentukan *flavor* dan aroma seperti senyawa asetaldehid dan diasetil.

Menurut Axelsson (2004), BAL homofermentatif mengubah keseluruhan glukosa menjadi asam laktat melalui jalur glikolisis sedangkan heterofermentatif memfermentasi glukosa menjadi asam laktat melalui jalur fosfoketolase. BAL yang tergolong homofermentatif dapat mengubah 95% dari glukosa menjadi asam laktat, CO₂ dan asam-asam volatil lainnya juga dihasilkan tetapi dalam jumlah yang sangat kecil. BAL yang tergolong heterofermentatif mengubah glukosa menjadi asam laktat, etanol, asam asetat, asam format dan CO₂ dalam jumlah yang hampir sama. Axelsson (2004) menambahkan beberapa contoh BAL yang bersifat homofermentatif adalah *Streptococcus*, *Pediococcus* dan beberapa spesies *Lactobacillus* seperti *L. bulgaricus*, *L. lactis*, *L. acidophilus*, dan *L. helveticus* sedangkan contoh BAL yang bersifat heterofermentatif adalah *Leuconostoc* dan beberapa spesies *Lactobacillus* seperti *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. buchneri*, *L. pastorianus*, dan *L. hircadii*

1. *Lactobacillus acidophilus*

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* termasuk ke dalam golongan bakteri Gram positif, berbentuk batang, berkoloni seperti rantai, serta tidak membentuk spora. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* adalah jenis bakteri yang juga tergolong pada kelompok BAL. Bakteri ini merupakan mikroflora alami pada saluran pencernaan manusia dan dapat memproduksi asam laktat sebagai hasil utama fermentasi karbohidrat. Bakteri ini dapat pula menghasilkan bakteriosin yang dapat merangsang pembentukan antibodi tubuh (Salminen dan Wright, 1998).

Selain kemampuannya menghasilkan beberapa senyawa, bakteri *Lactobacillus acidophilus* dapat menempel pada sel-sel epitel saluran pencernaan, dapat pula ditemukan dalam usus manusia dan dapat diisolasi dari feses bayi sehat yang berusia 1-2 bulan, selain itu dapat juga ditemukan pada air susu ibu. *Lactobacillus acidophilus* digolongkan ke dalam BAL yang bersifat homofermentatif karena bakteri ini memfermentasi gula-gula atau karbohidrat yang hanya menjadi asam laktat melalui jalur glikolisis (Mitsuoka, 1989; Yuguchi dkk., 1992; Atlas, 1989).

Menurut Soeharsono (2010), suatu penelitian menunjukkan bahwa BAL berpotensi mengikat kolesterol. Bakteri tersebut menghasilkan enzim *Bile Salt Hydrolase* (BSH). Enzim ini menghasilkan asam empedu terdekongjugasi dalam bentuk asam kolat bebas yang kurang diserap usus halus dibanding asam empedu terkonjugasi. Karenanya asam empedu yang kembali

ke hati menjadi berkurang. Asam empedu yang terbuang lewat feses mengakibatkan semakin banyak kolesterol yang dibutuhkan untuk mensintesis garam empedu lagi, sehingga kadar kolesterol akhirnya menjadi turun

Disamping itu, Soeharsono (2010) menambahkan bahwa BAL dalam *yoghurt* mempunyai berbagai manfaat untuk kesehatan. Diantaranya sebagai probiotik yang dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit saluran pencernaan, karena BAL memproduksi senyawa antimikrobia, antara lain bakteriosin, hidrogen peroksida, dan berbagai antibiotik alami.

Nutrisi yang dibutuhkan untuk *Lactobacillus acidophilus* digunakan sebagai sumber energi. Senyawa yang tidak dapat disintesis oleh bakteri tersebut tetapi dibutuhkan untuk sumber energi adalah asam amino, asam lemak, vitamin, dan mineral. *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan enzim hexokinase yang digunakan untuk menguraikan glukosa sebagai sumber energi untuk pertumbuhannya. Suhu optimal adalah 35 – 38⁰C. Tidak dapat tumbuh pada pH > 6, *Lactobacillus acidophilus* masih dapat bertahan hidup pada pH mencapai 3 dan menghasilkan asam laktat sampai 4% (Salminen dan Wright, 1998).

Lactobacillus menghidrolisis laktosa dengan adanya aktivitas β -galaktosidase dan atau β -D-phospogalaktosidase (Gilliland, 1985). *Lactobacillus acidophilus* mempunyai enzim β -galaktosidase yang bisa menggunakan substrat oligosakarida dari produk susu nabati yang

mengandung rafinosa dan stakiosa dalam fermentasi sehingga menghasilkan minuman probiotik yang tidak menyebabkan flatulensi (Rackis, 1970).

BAL yang digunakan pada kultur produk susu memiliki dua tipe β -galaktosidase (β -gal). Laktase yang dihasilkan oleh *Lactobacillus acidophilus* disebut β -galaktosidase galaktohidrolase (β -gal) sedangkan pada *Lactobacillus lactis* disebut β -D-phosphogalaktosidase galaktohidrolase (β -P-gal) (Shah, 1994). Laktosa dihidrolisis di dalam sel bakteri oleh enzim β -galaktosidase menjadi glukosa dan galaktosa, serta oleh enzim β -D-phosphogalaktosidase menjadi glukosa dan galaktosa-6-fosfat (Siswanti, 2002).

2. *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus adalah BAL dan sebagai *starter* untuk pembuatan *yoghurt*, berbentuk bulat dan membentuk rantai. Bakteri ini tergolong homofermentatif yaitu bakteri yang dalam proses fermentasinya menghasilkan lebih dari 85% asam laktat, sedangkan suhu optimum pertumbuhannya 37-42⁰C, dengan pH optimum 6,5, tidak tumbuh pada suhu 10⁰C, tidak tahan pada konsentrasi garam 6,5%, bersifat termodurik (Helferich dan Westhoff, 1980; Rahman, 1992).

Pembentukan asam laktat dari laktosa digunakan sebagai sumber energi dan karbon selama pertumbuhan bakteri dalam proses fermentasi sehingga pH akan menurun. Turunnya pH sangat berpengaruh terhadap kasein sebagai bagian protein yang terbanyak dalam air susu, yaitu menyebabkan kasein ini tidak stabil dan terkoagulasi (Helferich dan Westhoff, 1980).

E. Manfaat Probiotik bagi Kesehatan Tubuh

Probiotik adalah makanan suplemen yang tersusun dari bakteri hidup yang dikonsumsi secara oral, menghasilkan keuntungan bagi kesehatan konsumen lebih dari makanan normal (Soeharsono, 2010). Probiotik dapat memproduksi bakteriosin untuk melawan patogen yang bersifat selektif hanya terhadap beberapa *strain* patogen. Probiotik juga memproduksi asam laktat, asam asetat, hidrogen peroksida, laktoperoksidase, lipopolisakarida, dan beberapa antimikrobal lainnya. Probiotik juga menghasilkan sejumlah nutrisi penting dalam sistem imun dan metabolisme *host*, seperti vitamin B (asam pantotenat), pyridoksin, niasin, asam folat, kobalamin, dan biotin serta antioksidan penting seperti vitamin K (Adams, 2009).

Manfaat probiotik bagi kesehatan tubuh dapat melalui 3 (tiga) mekanisme fungsi:

- a. Berfungsi sebagai protektif yaitu kemampuannya untuk menghambat patogen dalam saluran pencernaan. Terbentuknya kolonisasi probiotik dalam saluran pencernaan, mengakibatkan kompetisi nutrisi dan lokasi adhesi (penempelan) antara probiotik dan bakteri lain, khususnya patogen. Pertumbuhan probiotik juga akan menghasilkan berbagai komponen antibakteri (asam organik, hidrogen peroksida, dan bakteriosin yang mampu menekan pertumbuhan patogen) (Rahayu, 2008; Callado dkk., 2009)
- b. Berfungsi sebagai sistem imun tubuh, yaitu menginduksi pembentukan IgA, aktivitas makrofag, modulasi profil sitokin yang berbanding lurus dengan

peningkatan sistem imun tubuh serta dapat menginduksi *hyporesponsiveness* terhadap antigen yang berasal dari pangan (Rahayu, 2008).

- c. Berfungsi sebagai metabolit probiotik, yaitu metabolit yang dihasilkan oleh probiotik, mendegradasi laktosa di dalam produk yoghurt sehingga dapat dikonsumsi oleh penderita *lactose intolerance* (Rahayu, 2008).

F. Komponen Yoghurt

Komponen *yoghurt* adalah bahan-bahan yang digunakan untuk membuat *yoghurt*. Adapula bahan-bahan tersebut dijelaskan di bawah ini.

1. Susu sapi

Susu adalah susu sapi yang tidak ditambahkan ataupun dikurangi sesuatu dari padanya, diperoleh dengan jalan pemerahan sapi yang sehat secara teratur, sempurna, dan tidak terputus-putus (Mukhtar, 2006). Susu menyediakan 75% kebutuhan kalsium dan gizi lain yang dibutuhkan oleh tubuh. Susu mengandung bahan kering sebesar 12,7%. Bahan kering yang terkandung dalam susu yang akan difermentasi menjadi *yoghurt* dapat memengaruhi keasaman dan kekentalan *yoghurt*. Semakin tinggi bahan kering susu (karbohidrat) maka semakin banyak asam laktat yang terbentuk sehingga meningkatkan keasaman *yoghurt*, dan sebaliknya (Aditya, 2010).

2. Susu skim bubuk

Susu skim adalah bagian susu yang tertinggal setelah krim diambil sebagian atau seluruhnya. Susu skim mengandung semua komponen gizi

dalam susu yang tidak dipisahkan, kecuali lemak dan vitamin-vitamin dalam lemak (Buckle dkk., 1987). Susu skim dalam bentuk bubuk memiliki kandungan lemak sebesar 0,6%, protein 36,1% dan laktosa 52,9% (Tamime dan Robinson, 1985). Laktosa yang terkandung tersebut merupakan *fermentable sugar* yang dapat dimanfaatkan oleh BAL untuk pertumbuhan sehingga susu skim merupakan salah satu medium yang baik untuk pertumbuhan BAL.

Tamime dan Robinson (1985) menyatakan bahwa penggunaan susu skim bubuk ternyata dapat meningkatkan kandungan total padatan dari susu yang berpengaruh nyata terhadap kekentalan, aroma dan total asam *yoghurt*, yang semakin tinggi total padatan akan semakin tinggi pula total asam yang dihasilkan. Penambahan susu skim bubuk juga dapat meningkatkan kandungan protein, selain sebagai sumber laktosa bagi kehidupan kultur BAL. Kandungan protein yang semakin meningkat ini akan menaikkan total padatan susu yang kemudian akan memengaruhi kekentalan susu fermentasi.

Menurut Selamat (1992), penambahan susu skim kira-kira sebanyak 10% akan membentuk gumpalan atau *curd* yang baik, karena jika ditambahkan sekitar 5-7% susu fermentasi yang dihasilkan akan encer dan menurut Setyaningsih (1992), penambahan susu skim 10% paling disukai oleh panelis memiliki nilai organoleptik paling tinggi. Selain itu Yulianis (2004) menyimpulkan dari hasil penelitiannya bahwa kombinasi penambahan susu skim yang terlalu tinggi yaitu sekitar 20% akan menghasilkan bentuk *curd*

yang padat dan pecah. Hal ini diasumsikan karena penggumpalan yang terjadi terlalu banyak sehingga aroma asam yang dihasilkan juga berlebihan (*over fermented*).

3. Bahan Penstabil

Pada umumnya, *yoghurt* mudah mengalami sineresis yakni proses terbentuknya cairan berwarna kekuningan pada permukaan *yoghurt* atau dikenal juga dengan *whey* (Rauf dan Sarbini, 2012). Penambahan tepung kacang merah yang memiliki massa lebih berat dari susu sehingga cenderung mengendap di dasar. Oleh karena itu, penambahan bahan penstabil menurut Orihara dkk. (1992) memungkinkan koagulasi dengan sedikit *wheying off* dan mengikat air sehingga bahan (tepung kacang merah) dapat bercampur rata. Menurut Tamime dan Deeth (1980), tujuan lainnya adalah meningkatkan dan mempertahankan karakteristik *yoghurt* seperti tekstur, viskositas, konsistensi, penampakan dan “*mouthfeel*”.

Menurut Tamime dan Robinson (1985), bahan penstabil seringkali dihubungkan dengan senyawa hidrokoloid. Peranan penstabil dalam *yoghurt* berfungsi untuk mengikat air dan meningkatkan viskositas. Molekul-molekul dari bahan penstabil mampu membentuk jaringan dengan unsur pokok dalam susu sehingga menghasilkan muatan negatif yang terkonsentrasi pada daerah interfasial. Mekanisme pengikatan air oleh bahan penstabil yaitu:

- a. Bahan penstabil mengikat sebagian air yang sudah mengalami hidrasi

- b. Bahan penstabil bereaksi dengan unsur dalam susu (terutama protein) untuk meningkatkan hidrasi air
- c. Menstabilkan molekul protein untuk membentuk jaringan yang akan memperlambat gerakan bebas dari air.

Menurut Tamime dan Robinson (1985), salah satu bahan penstabil yang dapat digunakan dalam pembuatan *yoghurt* adalah karagenan. Karagenan dihasilkan dari ekstraksi rumput laut jenis *Euchema* spp. Karagenan banyak digunakan sebagai bahan penstabil, pengemulsi, pengental, serta bahan tambahan dalam berbagai produk makanan. Menurut Nussinovitch (1997), bila dibandingkan dengan penggunaan hidrokoloid lainnya, penggunaan karagenan sebagai bahan penstabil relatif lebih murah.

Karagenan adalah suatu bentuk polisakarida linear dengan BM yang tinggi, yaitu 100.000-500.000 Dalton. Karagenan tersusun dari unit-unit galaktosa dan 3,6-anhydro-D-galaktosa, dapat berikatan ataupun tidak dengan sulfat, dihubungkan dengan ikatan glikosidik α -1,3 dan β -1,4 secara bergantian (Nussinovitch, 1997).

G. Deskripsi dan Kedudukan Taksonomi Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kacang merah dikenal dengan nama *dry bean*, *kidney bean*, *navy bean*, *common bean* atau *haricot bean* (Evan, 1974), sedangkan kacang merah yang masih berpolong dan berwarna hijau disebut *french bean* atau *snap bean* (Kay, 1979). Biji

kacang merah berbentuk bulat agak panjang, berwarna merah atau merah berbintik-bintik putih (Rukmana, 2009), dapat dilihat pada Gambar 2.

Kedudukan taksonomi kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) menurut Backer dan van den Brink (1963) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Rosales
Famili	: Papilionoideae
Genus	: <i>Phaseolus</i>
Spesies	: <i>Phaseolus vulgaris</i> L.



Gambar 2. Kacang merah (*Phaseolus vulgaris* L.) berwarna merah dan ukuran 1,5-1,7 cm (Anonim, 2013)

H. Komposisi Kimia Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kacang merah mengandung protein yang cukup tinggi sekitar 22 gram per 100 gram biji kering. Jenis protein yang terdapat pada kacang merah adalah faseolin 20%, faseolin 2% dan konvaselin 0,35-0,40% dari berat biji kering. Kandungan karbohidratnya pun cukup tinggi sedangkan kandungan lemaknya sangat rendah. Komponen karbohidrat yang terdapat dalam kacang merah adalah sukrosa 2,56%,

rafinosa 0,71%, stakiosa 3,77%, gula 1,60%, dekstrin 3,70%, pati 35,20%, pentosan 8,40%, galaktan 1,30% dan pektin 0,70%. Sedangkan komponen lemak kacang merah terdiri dari asam lemak jenuh (asam palmitat dan sejumlah kecil karnaubik) 19,0% dan asam lemak tidak jenuh (oleat, linoleat dan linolenat) 63,3% (Kay, 1979).

Kacang merah selain kaya akan protein dan karbohidrat, juga cukup banyak mengandung mineral dan vitamin B. Mineral-mineral yang terdapat dalam jumlah cukup banyak dalam 100 gram biji kering adalah kalsium 260 mg; besi 5,80 mg; tembaga 0,95; fosfor 410 mg dan magnesium 194 mg (Salunkhe dan Desai., 1984).

I. Keunggulan Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Kacang merah merupakan sumber serat yang baik, yaitu setiap 100 gram kacang merah kering menyediakan serat sekitar 4 gram yang terdiri atas serat larut dan juga serat tidak larut (Salunkhe dan Desai, 1984). Serat larut secara signifikan menurunkan gula darah karena serat larut dapat menurunkan respon glikemik pangan secara signifikan (Rimbawan dan Albiner, 2004; Nurfi, 2009). Adanya gum dan pektin pada kacang merah dapat menurunkan kadar gula darah, lignin berkhasiat untuk mencegah kanker usus besar dan kanker payudara, mengandung glikemia yang rendah sehingga dapat memperlambat kenaikan gula darah dan menjaga glukosa tetap normal (Cahyono, 2003). Widowati dan Misgiyarta (2004) menyatakan bahwa hasil olahan kacang merah menjadi susu kacang merah memiliki cita rasa yang lebih enak untuk dikonsumsi dibandingkan dengan susu kacang kedelai, kacang tanah, kacang hijau dan kacang tunggak.

J. Tepung Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.)

Tepung kacang merah adalah tepung yang berasal dari penggilingan kacang merah yang telah direndam, direbus, dan dikeringkan. Pembuatan tepung kacang merah dilakukan untuk meningkatkan kualitas dan nilai gizi kacang merah. Keunggulan lainnya dari pengolahan kacang merah menjadi tepung kacang merah adalah meningkatkan daya guna, hasil guna dan nilai guna, lebih mudah diolah atau diproses menjadi produk yang memiliki nilai ekonomi tinggi, lebih mudah dicampur dengan tepung-tepung dan bahan lainnya (Marlinda, 2012). Di samping itu, tepung kacang merah memiliki serat yang tinggi yakni 4% dalam 100 g sehingga bila difermentasi dalam susu akan menghasilkan asam lemak rantai pendek. Kandungan gizi dari tepung kacang merah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan gizi per 20 gram tepung kacang merah (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1992)

No.	Jenis Zat Gizi	Kandungan Zat Gizi
1	Energi (kkal)	73,87
2	Protein (g)	4,57
3	Lemak (g)	0,48
4	Karbohidrat (g)	12,83

Kacang merah mengandung enzim lipoksigenase yang dapat menyebabkan bau langu sehingga ditambahkan 1% natrium bikarbonat (NaHCO_3) ke dalam air perendaman. Hal ini disebabkan adanya penambahan bahan kimia baik asam maupun basa dapat mendenaturasi protein dan enzim-enzim yang berperan dalam pembentukan bau langu (Siagian, 1981). Menurut Susanto dan Saneto (1994), perendaman kedelai dalam larutan 0,5% NaHCO_3 ataupun dalam air selama 8-10 jam

yang diikuti dengan *blanching* dalam air mendidih menghasilkan minuman kedelai yang bebas bau langu dan aktivitas tripsin inhibitor negatif.

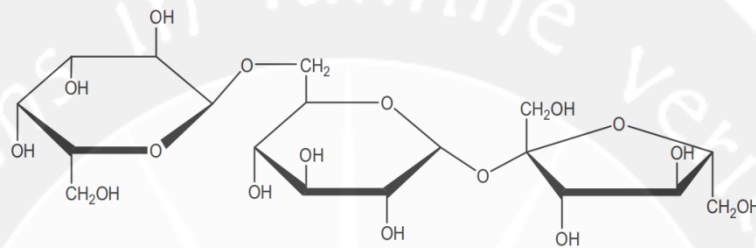
K. Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) sebagai Prebiotik

Prebiotik merupakan bahan pangan yang tidak tercerna, berfungsi menstimulasi pertumbuhan dan atau aktivitas dari satu atau lebih bakteri tertentu dalam usus besar, yang dapat memperbaiki kesehatan inang. Banyak pangan dengan oligosakarida atau polisakarida (termasuk serat pangan) yang diklaim mempunyai aktivitas prebiotik, meskipun tidak semua karbohidrat pangan adalah prebiotik (Roberfroid, 2005).

Menurut Tamang dan Kailasapathy (2010), oligosakarida termasuk salah satu jenis prebiotik. Sumber oligosakarida dapat ditemukan pada biji-bijian khususnya kacang merah. Komponen oligosakarida dari kacang merah adalah sukrosa 2,56%, rafinosa 0,71% dan stakiosa 3,77% yang mampu digunakan oleh bakteri probiotik sebagai sumber makanan. *L. acidophilus* dapat menggunakan rafinosa sebagai sumber karbon. Selain itu, *L. acidophilus* menghasilkan acidotin, acidophilin, bakteriocin, lactocidin. Hasil metabolit *L. acidophilus* berupa bakteriosin dapat menurunkan viabilitas bakteri lainnya (Hardiningsih dkk., 2006; Usmiati dan Utami, 2008).

Rafinosa adalah salah satu serat oligosakarida yang terkandung pada kacang merah. Pada Gambar 3 rafinosa terdiri atas molekul monosakarida yang berikatan yaitu galaktosa-glukosa-fruktosa. Rafinosa tidak dapat digunakan oleh manusia sebagai sumber karbohidrat, namun rafinosa dapat dimanfaatkan oleh BAL

khususnya *L. acidophilus* untuk aktivitas hidupnya. *L. acidophilus* lebih efektif menggunakan stakiosa dan rafinosa sebagai sumber karbon karena memiliki enzim β -galaktosidase yang menghidrolisis rafinosa dan stakiosa pada kacang merah menjadi glukosa, fruktosa, dan galaktosa (Usmiati dan Utami, 2008).



Gambar 3. Struktur kimia rafinosa (Swennen dkk., 2006)

L. Hipotesis

1. Kombinasi tepung kacang merah dan susu skim pada pembuatan *yoghurt* akan memberikan pengaruh yang berbeda terhadap kualitas (sifat fisik, kimia, mikrobiologis dan organoleptik) *yoghurt* probiotik yang dihasilkan.
2. Kombinasi tepung kacang merah dan susu skim untuk mendapatkan kualitas *yoghurt* probiotik terbaik adalah 3% tepung kacang merah : 7% susu skim.
3. Viabilitas BAL *yoghurt* probiotik dengan kombinasi tepung kacang merah dan susu skim hingga hari ke-15 sebesar 10^9 CFU/ml.